



EESTI MAAÜLIKOOL

Metsandus- ja maaehitusinstituut

Juho Ikkonen

**JUUREMÄDANIKE KAHJUSTUSTE ANALÜÜS HARILIKU
KUUSE (*PICEA ABIES* L.) NOORENDIKES**

**ANALYSIS OF ROOT ROT DAMAGES IN YOUNG NORWAY
SPRUCE (*PICEA ABIES* L.) STANDS**

Metsanduse õppekava

Bakalaureuse lõputöö

Juhendajad: Tiia Drenkhan, teadur (PhD)

dotsent Rein Drenkhan, dotsent (PhD)

Tartu 2018

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Bakalaureusetöö lühikokkuvõte	
Autor: Juho Ikkonen		Õppekava: Metsandus	
Pealkiri: Juuremädanike kahjustuste analüüs hariliku kuuse (<i>Picea abies</i> L.) noorendikes			
Lehekülgi: 36	Jooniseid: 5	Tabeleid: 7	Lisasid: 0
õppetool: Metsakasvatuse- ja metsaökoloogia			
ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: 1. Bio- ja keskkonnateadused; 1.5. Metsandusteadus; CERCS ERIALA: B430 Metsakasvatus, metsandus, metsandustehnoloogia; PÕHISUUND: metsapatoloogia			
Juhendaja(d): Tiia Drenkhan <i>PhD</i> , Rein Drenkhan <i>PhD</i>			
Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu, 2018			
Bakalaureusetöö raames uuriti hariliku kuuse (<i>Picea abies</i> L.) viljakates kasvukohtades kasvavate noorendike nakatumist juuremädanike tekitajatega ning kuidas eelneva metsapõlve kännud mõjutavad uue metsapõlve tervislikku seisundit.			
Töö jaoks koguti proove 2016. aasta sügisest 2017. aasta kevadeni kuusenoorendikest vanusevahemikus 5-20 aastat, s.o 16-lt proovialalt puukettaid, 8-alalt juureproove ja 9 alalt juurdekasvuproove.			
Katsealad asusid Tartumaal (18), Jõgevamaal (6), Põlvamaal (6) ja Valgamaal (1). Välitöödel kogutud proovidele tehti laboris liigispetsiifiliste DNA praimeritega test kuuse-juurepessu, männi-juurepessu ja külmaseene tuvastamiseks. Analüüsi käigus tuvastati 398-st proovist 57-l (14,5%) seenpatogeeni olemasolu. Peamiseks kahjustajaks oli kuuse-juurepess (<i>Heterobasidion parviporum</i>), mida määrati 57-st nakatunud proovist 49-l (86%), lisaks männi-juurepessu (<i>Heterobasidion annosum</i>) 8-l (14%) ja külmaseent (<i>Armillaria</i> spp.) 8-l (14%). Kõige enam analüüsiti jänesekapsa kasvukohatüübi puistuid (23 ala) ning suurim kahjustuste hulk tuvastati ka jänesekapsa kasvukohatüübi alalt PE 061, millel esines kuuse-juurepess 6 proovil 12-st, s.o 50% kogutud proovidest oli nakatunud. Tegemist oli vaid 10-aastase noorendikuga ning testiti puiduketastest kogutud saepuru. Sellele järgnesid jänesekapsa kasvukoha 11-aastane puistu EV187 er. 9, kus oli nakatunud 41,6% proovidest ning jänesekapsa ja sinilille kasvukohtatüüpide puistud			

KV168–1 (5 aastane puistu) ja TT213-6 (8 aastane puistu), mõlemal nakatunud juurepessu 38,1% proovidest. Eelmise metsapõlve juurepessu nakkus tähendab järgmise metsapõlve nakatumist tõenäosusega 52%, seda jänesekapsa ja sinilille kuusikutes.

Märksõnad: *Heterobasidion* spp., *Armillaria* spp., liigispetsiifiline DNA praimer

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Abstract of Bachelor's Thesis	
Author: Juho Ikkonen		Curriculum: Forestry	
Title: Analysis of root rot damages in young Norway spruce (<i>Picea abies</i> L.) stands			
Pages: 36	Figures: 5	Tables: 7	Appendixes: 0
Department: Silviculture and forest ecology			
Field of research and (CERC S) code: Bio- and environmental sciences; 1.5. Forest science; CERCS ERIALA: B430 Silviculture, forestry, forestry technology; main direction: forest pathology			
Supervisors: Tiia Drenkhan <i>PhD</i> , Rein Drenkhan <i>PhD</i>			
Place and date: Tartu, 2018			
<p>In the course of the bachelor's work the infections of root rot in young Norway spruce (<i>Picea abies</i>) stands, which grow on fertile site types, were investigated. Also was analysed the effect of old forest stumps infection to new generation spruce trees in age 5 to 20 years.</p> <p>During the 2016 autumn until the spring of 2017, wood disc samples were collected from 16 sites, root samples from 8 sites and increment core samples were collected from 9 sampling sites.</p> <p>The sampling sites were in Tartumaa (18), Jõgevamaa (6), Põlvamaa (6) and Valgamaa (1). The samples were analysed in the laboratory with species-specific DNA primers of <i>Heterobasidion parviporum</i>, <i>H. annosum</i>, <i>Armillaria</i> spp.. The total amount of the samples was 398 out of which 57 (14,5%) were infected with a fungal pathogen. The main damager was <i>H. parviporum</i> which was detected in 49 (86%) samples out of 57, <i>H. annosum</i> and <i>Armillaria</i> were both found in 8 samples (14%). The highest number of samples were collected from <i>Oxalis</i> boreal forest site type (23 sites). The most damaged sampling site out of all was PE 061 which had 6 (50%) infected samples out of 12 and it was only a 10 year old young spruce stand. The second most infected sampling site was also in <i>oxalis borealis</i> forest site type EV 187. This was an 11-year-old stand, the infection percentage was 41,6%. The third most infected sampling sites were in <i>Oxalis</i> boreal forest</p>			

site type KV 168 and *Hepatica* boreo-nemoral forest site type TT 213 which both had 38,1% infected samples.

Keywords: *Heterobasidion* spp., *Armillaria* spp., species- specific DNA primer

SISUKORD

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	9
1.1 Juurepessu (<i>Heterobasidion</i> spp.) üldiseloomustus ja levik	9
1.2 Külbaseene (<i>Armillaria</i> spp.) üldiseloomustus ja levik	12
2. MATERJAL JA METOODIKA	13
2.1 Katsealade valik	13
2.2 Välitööd	13
2.2.1 Eelneva metsapõlve kännud	14
2.2.2 Puukettad	15
2.2.3 Juureproovid	16
2.2.4 Juurdekasvuproovid	17
2.3 Laboratoorsed tööd	18
2.4 Molekulaarne juurepessu liikide ja külbaseene olemasolu määramine	19
2.4.1 DNA eraldamine	19
2.4.2 PCR (Polymerase chain reaction) polümeraas ahelreaktsioon	19
2.4.3 Geelelektrofree	20
3. TULEMUSED	22
3.1 Seenpatogeenide esinemine maakondade kaupa	28
3.1.1 Tartumaa	28
3.1.2 Jõgevamaa	29
3.2 Põlvamaa ja Valgamaa	29
ARUTELU	30
KOKKUVÕTE	32
KASUTATUD KIRJANDUS	34

SISSEJUHATUS

Harilik kuusk (*Picea abies* L.) on üks kolmest olulisemast Eestis kasvavast puuliigist. Kuuse osakaal majandatava metsamaa tagavarast on 19,9% ja pindalast 19,3% (Aastaraamat... 2016). Kõige paremad kasvukohad kuuse jaoks on jänese kapsa, naadi, sinilille ja kastikuloo kasvukohatüübid, mis on enam kahjustatud ka juuremädanike poolt (Hanso, Hanso 1999a).

Juurepessu (*Heterobasidion* spp.) esinemine põhjustab puistu tervisliku seisundi halvenemist, puidu kvaliteedi ja juurdekasvu vähenemist ning puud muutuvad seeläbi vastuvõtlikumaks tormikahjustustele. Kui mädanik on kaugele arenenud, siis puud kuivavad või muutuvad vastuvõtlikuks tuuleheitele (Hanso, Hanso 1999b). Seennakkuse levikut mõjutavad nii kasvukohta tingimused kui ka metsas toimunud inimtegevus (so. peamiselt raietegevus). Raiet teostades tekitame kände, mis on juurepessu eostele väga heaks substraadiks (Hanso, Hanso 1999a).

Seenpatogeeni poolt nakatunud eelnev metsapõlv on suureks ohuks ka kultiveeritavale või looduslikult sinna tekkivale uuele metsapõlvele. Kahjustatud puude kändude juurte kaudu levib seen müetseel naabruses kasvavatele puudele ning ka uutele istutatud okaspuutaimedele (Hanso, Hanso 1999a). Juurepessu poolt nakatunud puistus on seennakkuse oht mitmetes järgnevas metsapõlvedes (Hanso, Õunap 2016).

Bakalaureusetöö eesmärgiks oli anda ülevaade kuusenoorendike (vanusevahemikus 5-20 aastat) tervislikust seisundist, ning analüüsida juuremädanike osakaalu sõltuvalt kasvukohatüübist ning eelneva metsapõlve kändude mädaniku olemasolust ja ulatusest maakondade kaupa.

Töö esimeses osas antakse kirjanduse ülevaade juuremädanike tekitajate juurepess ja külmaseen kohta. Järgneb meetodika, kus antakse ülevaade katsealadest ning läbiviidud väli- ning labortöödest. Viimasteks tööosadeks on tulemused ja arutelu.

Autor soovib tänu avaldada oma juhendajatele Tiia Drenkhan'ile ja Rein Drenkhan'ile abistavate paranduste ja vihjete eest, ning meeldiva kogemuse eest osaleda teostatud

teadustöös. Samuti suur tänu Katrin Jürimaa'le, Kalev Adamson'ile ja Elisabeth Rähn'ile laboris juhendamise ning kasulike näpunäidete jagamise eest.

Käesolev bakalaureusetöö valmis RMK projekti „Kuusikute raieaja ja raieviiside mõju patogeenide levikule ja arvukusele ning puistu elurikkusele viljakates kasvukohatüüpides“ raames.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Juurepessu (*Heterobasidion* spp.) üldiseloostus ja levik

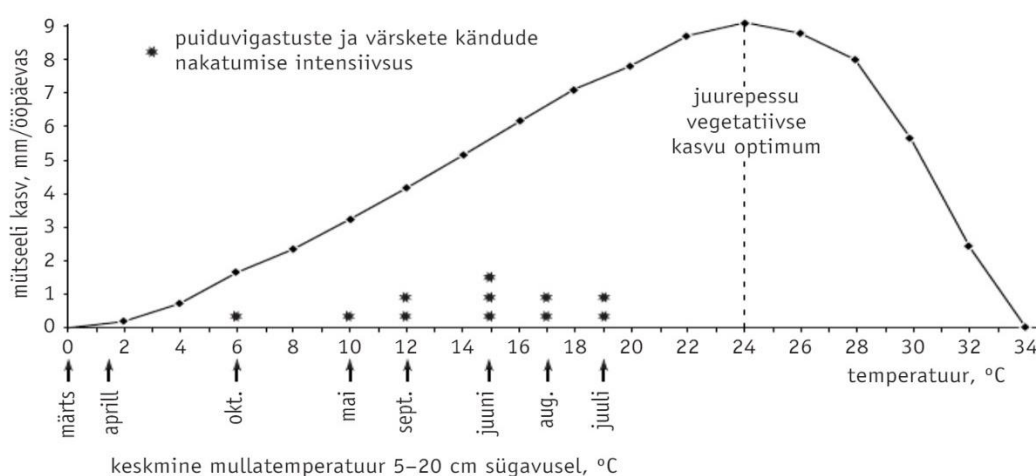
Kõige olulisem seenpatogeen põhja parasvöötme metsades on juurepess (*Heterobasidion* spp.). Juurepess tekitab tüves valgemädanikku ja juurte suremist (Butin 1995). Eestis võib haigustekitajat peamiselt leida harilikul kuusel ja harilikul männil, kuid teda on ka avastatud teistelt puuliikidelt: harilik kadakas (*Juniperus communis* L.), arukask (*Betula pendula* Roth.), lehis (*Larix* sp.), nulg (*Abies* sp.), ebatsuuga (*Pseudotsuga* sp.), kui ka mõnel alustaimestiku liigil (mustikas, kanarbik) (Hanso ja Hanso 1999 a;b). Suurimat mõju avaldab juurepess just monokultuursetele puistutele (eelkõige kuusikud), kus puudel on juurestikud kokkukasvanud ja puistu on väga vastuvõtlik haigustele (Piri, Korhonen 2008). Varjatud avaldumisviisi tõttu on juurepessu nakkust keeruline määrata. Seenpatogeeni liigi määramine toimub tänapäeval valdavalt molekulaarsel teel, väliste tunnuste järgi saab eristada männi- ja kuuse-juurepessu vaid hümenofooril olevate pooride tiheduse alusel (kuusel- 8,5-17,6 poori/mm², männil- 4,4-12,2 poori/mm²) (Korhonen 1978).

Juurepessu poolt tekitatud valgemädanik põhjustab puude juurdekasvu vähenemist ja puidu kvaliteedi halvenemist (Drenkhan 2014). Paljunemisorganiks on mitmeaastased viljakehad, neid võib hariliku kuuse puhul leida peamiselt tormiheidetud puude juurtelt, kändudelt ning metsas olevatelt raiejäätmetelt (Hanso, Õnap 2016). Positiivseks võib pidada seda, et kaugele arenenud haiguse korral kuuse okastik hõreneb, mis omakorda tõstab metsas maapinnale jõudva valguse hulka. Paranenud valgustingimustes muutuvad niiskuse ja temperatuuri tingimused, mis muudavad elukeskkonna paljudele looma- ja taimeliikidele sobilikumaks (Asiegbu *et al.* 2005). Majanduslik kahju on siiski kõrge, juurepessust tingitud kahju ulatus Euroopas on hinnatud ligikaudu 800 miljonit eurot aastas (Woodward *et al.* 1998).

Eestist on siiani avastatud kaks juurepessu liiki – kuuse-juurepess (*Heterobasidion parviporum*) ja männi-juurepess (*H. annosum*) (Korhonen *et al.* 1998a). Eestis domineerib harilikul kuusel kuuse-juurepess (*H. parviporum*), kuid kuusel võivad esineda mõlemad

juurepessu liigid (Korhonen *et al.* 1998a). Leedus seevastu on kuuskedel enim levinud männi-juurepess, mis võib olla tingitud laialt levinud liivmulla esinemisest, mis on sobilik männi kasvuks (Korhonen *et al.* 1992).

Juurepessu puistusse levimise korral kestavad kahjustused mitmeid metsapõlvkondi (Hanso, Õunap 2016). Jooniselt 1 on näha, et juurepessu seeneniidistiku levimiseks on kõige soodsamad temperatuurid +22...28 °C vahel, kuid isegi suvekuudel ei tõuse 5-20 cm sügavusel keskmine temperatuur nii kõrgele ja seetõttu on juurestiku kaudu patogeeni levik kergem ja tõhusam vaid hästi soojenevates, parajalt niisketes muldades (Hanso, Hanso 1999a).



Joonis 1. Juurepessu levik sõltuvalt temperatuurist (Hanso ja Hanso 1999b järgi)

Kõige enam kahjustavad juuremädanikud just viljakatel kasvukohtadel kasvavaid kuusikuid. Joonis 2 kajastab harilikule kuusele juurepessu ohtlikke kasvukohatüüpe ning need kasvukohatüübid (jänsekapsa, naadi, sinilille, kastikuloo) on kõige enam juuremädanike poolt ohustatud.

saavad edasi areneda. Mädanik levib nakatunud kändudel edasi juurekontaktide kaudu ja mida tihedam ning liigivaesem on puistu, seda kiirem ja intensiivsem on ka nakkuse levimine. Seeneniidistiku edasi liikumise kiirus on suuresti mõjutatud ka sellest, kas tegu on elava puuga või juurtega (Hanso ja Hanso 1999b). Rootsis läbi viidud uuringust selgust, et elusa ja surnud kuuse juurtes levib juurepess erineva kiirusega vastavalt 9 cm ja 25 cm aastas (Bendz-Hellgren, Stenlid 1997).

1.2 Külmaseene (*Armillaria* spp.) üldiseloomustus ja levik

Juurepessu järel sekundaarseks majanduslikku kahju tekitavaks juuremädaniku patogeeniks okaspuupuistutes on külmaseen (*Armillaria* spp.). Külmaseen vähendab puude juurdekasvu ning kvaliteeti ning mõjutab puistute struktuuri ning ka koosseisu (Prospero 2003). Külmaseen põhjustab paljudel puittaimedel peamiselt maltspuidus valgemädanikku, nakatades kõigepealt juuri ja hiljem tüve (Tjoelker *et al.* 2007).

Eesti okaspuudel on külmaseene liikidest peamiselt levinud põhja-külmaseen (*Armillaria borealis*) ja tõmmu külmaseen (*A. ostoyae*). Esimene neist on nõrk patogeen, mis kahjustab juba eelnevalt nõrgestatud puid (näiteks juurepessu nakatunud). Seevastu tõmmu külmaseen on harilikule kuusele Eestis levivatest külmaseene liikidest kõige patogeensem, kuid siiani on tõmmu-külmaseent pigem leitud harilikult männilt (Hanso ja Hanso 1999a).

Külmaseene puude nakatumisviis ja levimine on juurepessust erinevad. Külmaseen kahjustab kõigepealt puude juuri, nakkus levib risomorfide kokkupuutel juurtega (Greig 1995). Juurte hävimisel tekivad puudel puuvõras kajastuvad haigustunnused: võrsete kasv pidurdub, lehestikus tekivad värvimuutused, võra hakkab kärbuma. Hollandis tehtud uuringust selgus, et hilisemas haigusstaadiumis toimub tüve alaosas tugev vaigujooks, mis on segunenud mulla ja okastega moodustades tüvele ebahühtlasi muhkusid või kattes mulla puu all vaiguga (Tjoelker *et al.* 2007).

2. MATERJAL JA METOODIKA

2.1 Katsealade valik

Andmed käesoleva lõputöö jaoks koguti kuuseenamusega (kuuseosalus 50% ja enam) noorendikest (vanuses 5-20) ja viljakatest kasvukohatüüpidest (jänsekapsas (JK), sinilille (SL), naadi (ND)), kokku 31 puistust. Alade eelvalik tehti Riigimetsa Majandamise Keskuse (RMK) andmebaasist, kuid nende hulgast katsealade valik oli juhuslik ning võimaluse korral jälgiti eelneva metsapõlve infot. Tulemusi analüüsitakse eraldi maakondade kaupa.

2.2 Välitööd

Välitööd teostati 2016. aasta sügisel ja 2017. aasta kevadel. Igal katsealal mõõdeti 25 m raadiusega prooviringid, kust valiti iga ala kohta 12 puud ning iga puu vahekaugus oli vähemalt 5 meetrit. Proovide kogumisel arvestati puu vanusega ning lähtuvalt sellest koguti kolme erinevat proovitüüpi: juured (järe- ja peenjuured), juurdekasvuproovid või puidukettad. Puistutest vanuses 5-10 aastat koguti juured, 5-16 aastat puuketas ja 11-20 juurdekasvuproov (tabel 1). Kasutusel olnud välitöövahendeid desinfitseeriti iga proovivõtu järel 96% piirituses ja põletati gaasileegis, et vältida ristsaaste tekkimist. Võimaluse korral hinnati taustainformatsiooni kogumiseks ka eelneva metsapõlve tervislikku seisundit (s.t känd ei olnud sammaldunud ega saprotroofide poolt lagundatud), selleks valiti igalt alalt raietööde käigus tekkinud känd. Märkiti üles mädanike esinemine (tsentraalne, perifeerne) ja värvimuutused (tumenemine) või teiste seente ja patogeenide (külmasene risomorfide) olemasolu kändudel. Kokku koguti 398 juure-, juurdekasvu-, ja puiduproovi. Proovialade ülevaade on toodud tabelis 1. Puistud olid valdavalt rajatud istutamise teel, v.a. TT214_9 ja KS040_12, mille kultiveerimise viisiks on metsaregistri andmetel seemnete keetmine ja ala VZ227 – 8 kohta vastav info puudub.

Tabel 1. Proovialade üldiseloomustus

Katseala kood	Metskond	Kasvukohatüüp	Puistu vanus, a	Proovitüüp
TT214 – 9	Tartumaa	JK	5	Juur
KV168 – 1	Tartumaa	JK	5	Juur
TT213 – 6	Tartumaa	SL	8	Juur
KS040 – 12	Tartumaa	ND	7	Juur
LA209 – 19	Jõgevamaa	JK	6	Juur
SV081 – 4	Põlvamaa	JK	8	Juur
PM178 – 9	Jõgevamaa	JK	9	Juur/puuketas
VZ227 – 8	Jõgevamaa	SL	9	Juur/puuketas
KV124 – 26	Tartumaa	JK	9	Puuketas
PE046 – 5	Tartumaa	SL	15	Puuketas
PE055 – 16	Tartumaa	JK	6	Puuketas
AK103 – 6	Tartumaa	JK	10	Puuketas
TT060 – 3	Tartumaa	JK	16	Puuketas
VA069 – 7	Tartumaa	JK	9	Puuketas
KS217 – 1	Tartumaa	JK	11	Puuketas
VZ210 – 8	Jõgevamaa	SL	10	Puuketas
LA175 – 10	Jõgevamaa	JK	12	Puuketas
QB004 – 2	Põlvamaa	SL	9	Puuketas
EV187 – 9	Põlvamaa	JK	11	Puuketas
PW164 – 11	Põlvamaa	JK	5	Puuketas
PE061 – 7	Tartumaa	JK	10	Puuketas
AA276 – 1	Valgamaa	JK	7	Puuketas
TT093 – 1	Tartumaa	JK	20	Juurdekasvuproov
JS298 – 12	Tartumaa	JK	20	Juurdekasvuproov
PE043 – 11	Tartumaa	SL	17	Juurdekasvuproov
PS009 – 3	Tartumaa	JK	14	Juurdekasvuproov
CO071 – 16	Tartumaa	SL	13	Juurdekasvuproov
VA146 – 14	Tartumaa	JK	11	Juurdekasvuproov
EV200 – 4	Põlvamaa	JK	10	Juurdekasvuproov
LA210 – 3	Jõgevamaa	JK	20	Juurdekasvuproov
EV202 – 21	Põlvamaa	JK	20	Juurdekasvuproov

2.2.1 Eelneva metsapõlve kännud

Välitööde käigus määrati kogu proovialade hulgast 24 alal eelneva metsapõlve kändudel mädaniku olemasolu. Alad millel esines mädanikku on kajastatud tabelis 2.

Tabel 2. Mädaniku esinemine eelneva metsapõlve käändudel

Katseala	Proovide hulk (tk)	Mädanikuga käändude hulk (tk)	Mädanikuga käändude hulk (%)	Mädaniku tüüp
TT214 – 9	20	16	80	Tsentraalne
KV168 – 1	21	4	19	Tsentraalne
TT213 – 6	21	8	38	Tsentraalne
KV124 – 26	12	1	8,3	Tsentraalne
PE046 - 5	12	3	25	Tsentraalne
PE055 – 16	12	2	16,6	Tsentraalne
AK103 – 6	12	1	8,3	Tsentraalne
TT060 – 3	12	1	8,3	Tsentraalne
VA069 – 7	12	3	25	Tsentraalne
KS217 – 1	12	7	33,3	Tsentraalne
LA209 – 19	12	3	25	Tsentraalne
LA175 – 10	12	2	16,6	Tsentraalne
TT093 – 1	12	2	16,6	Tsentraalne
PE043-11	12	2	16,6	Tsentraalne
QB004 – 2	12	5	41,6	Tsentraalne
SV081 – 4	12	4	33,3	Tsentraalne
VZ227 – 8	12	1	8,3	Tsentraalne
EV187 – 9	12	2	16,6	Tsentraalne
PW164 – 11	12	1	8,3	Tsentraalne
PE061 – 7	12	1	8,3	Tsentraalne
AA276-1	12	4	33,3	Tsentraalne
CO071 – 16	12	2	16,6	Tsentraalne
EV200 - 4	12	2	16,6	Tsentraalne
LA210 – 3	12	3	25	Tsentraalne

2.2.2 Puukettad

Kettaid koguti kokku 16 proovialalt (tabel 1). Igalt alalt võeti 12 prooviketast, välja arvatud PM178 ja VZ227 eraldistelt, seal võeti mõlemalt alalt kokku 6 prooviketast. Proovikettad võeti kännu kõrguselt, s.o ca 0,2m maapinnalt. Joonisel 3 on puuketta proovinäide, millest laboris võeti 2x0,05g saepuru DNA eraldamiseks .



Joonis 3. Prooviketas, millest on puuritud saepuruproov juuremädanike määramiseks

2.2.3 Juureproovid

Juureproove (joonis 4) koguti 8 alalt (tabel 1). Eraldistelt kogutud proovide arv oli erinev, ühelt alalt koguti 20 proovi (TT214 er. 9), kahelt alalt koguti 21 proovi (KV 168 er. 1 ja TT213 er. 6). Nende alade proovid olid kogutud teise projekti raames, kus oli nõutud suurem arv proove. Aladelt PM178 ja VZ227 koguti 6 juureproovi ala kohta, ning ülejäänud kolmelt alalt (KS040 er. 12, LA 209 er.19 ja SV081 er. 4) koguti igalt ühelt 12 proovi. Juureproovid koguti järgmiselt: juhuslikult välja valitud puud kaevati või tõmmati maa seest välja ja eemaldati kuuse tüveosa (Piiskop 2017). Juured viidi analüüsimiseks Eesti Maaülikooli metsapataloogia laborisse.



Joonis 4. Hariliku kuuse juured millest laboris pandi MCT tuubi peen- ja jämejuuri

2.2.4 Juurdekasvuproovid

Juurdekasvuproove koguti 9 alalt (TT093 er. 1, JS298 er. 12, PE043 er. 11, PS009 er. 3, CO071 er. 16, VA146 er. 14, EV200 er. 4, LA210 er. 3 ja EV202 er. 21) (tabel 1). Kõikidelt aladelt võeti 12 juurdekasvuproovi kännu kõrguselt ca 0,2m. Joonisel 5 on kujutatud mädanikuta juurdekasvuproov, millest eraldati 2x0,05g puitu DNA eraldamiseks ning juuremädanike liigiliseks määramiseks.



Joonis 5. Hariliku kuuse puistust kogutud mädanikuta juurdekasvuproov (foto: Elisabeth Rähn)

2.3 Laboratoorsed tööd

Laboratoorsed tööd teostati Eesti Maaülikooli metsandus- ja maaehitusinstituudi metsapatoloogia laboris. Puiduketaste korral mõõdeti kõigepealt igalt kettalt diameeter ja hinnati visuaalselt kas puidupinnal on märgata tumenemist või mädanike esinemist, seejärel puhastati kettaid jooksva vee all, et vähendada liiva ja muu mustuse sattumist proovi hulka. Seejärel desinfitseeriti 96%-lise piiritusega puhastades ja piirituslambil põletades vajaminevad töövahendid (nuga ja puuriotsik). Puidukettalt eemaldati noaga laast (vähemalt 2mm paksune), et vähendada mustuse sattumist proovi hulka. Laastu eraldamise koht sõltus sellest, kas kettal oli silmaga märgata tumenemise või mädaniku olemasolu, selle esinemise korral eemaldati laast tumenemise või mädaniku äärealalt ja kahjustuseta ketta korral selle tsentrist. Seejärel puuriti kettasse auk eraldades saepuru (joonis 3), mis pandi eraldi 2,0 microcentrifuge tuubidesse (MCT). Seda tehti alati kahes korduses (2x0,05 grammi).

Juureproovide korral puhastati hariliku kuuse juured jooksva vee all ning seejärel lõigati piirituses ja leegis steriliseeritud kääridega igalt puult jämedamaid (läbimõõduga 2mm ja enam) ja peenemaid (läbimõõduga kuni 2mm) juuri, mis asetati 2,0 MCT tuubidesse. Igalt puu juurelt võetud proovid pandi tuubidesse kahes korduses, ühe puu kohta kokku 4 MCT tuubi (so. kaks tuubi jämejuurtest ja kaks tuubi peenjuurtest), proovi hulk 0,05 grammi.

Proovid võeti juhusliku valiku alusel, liikudes juuretipust puu juurekaela suunas. Ühelt taimelt võeti juuri vähemalt kolmest juhuslikust erinevast juurestiku asukohast, need tükeldati DNA eraldamise paremaks õnnestumiseks.

Juurdekasvuproovide korral hinnati neid visuaalselt: mädaniku olemasolu, tumenemine või ilma mädanikuta proovid (joonis 5). Kirjutati üles puu diameeter ja eraldati eelnevalt mainitud metoodikat kasutades steriliseeritud skalpelliga juurdekasvust õhukesed kettad. Kui esines tumenemist, siis tehti lõige tumenemise äärealalt liikudes koore suunas, kui tumenemist ei esinenud, siis alustati lõiget võimalikult säsi juurest vältimaks säsi kahjustamist. Proovid asetati 2,0 MCT tuubidesse, kokku 2x0,05 grammi.

Kõik proovid asetati peale tuubidesse panekut -20 °C sügavkülma.

2.4 Molekulaarne juurepessu ja külmaseene määramine

2.4.1 DNA eraldamine

Proovide purustamiseks lisati MCT tuubi *ca* viis 3mm läbimõõduga steriilset metallkuuli, peale mida asetati proovid tagasi sügavkülma umbes 15 minutiks. Seejärel purustati homogenisaatoriga (Retsch GmbH, Haan, Germany). Proovidest DNA eraldamiseks kasutati DNA Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Lithuania), järgides tootja poolt ette antud protokoll. Peale DNA eraldamist asetati proovid tagasi sügavkülma -20 °C juurde.

2.4.2 PCR (Polymerase chain reaction) - polümeraas ahelreaktsioon

Eraldatud DNA-st juurepessu liikide määramiseks kasutati kuuse-juurepessu liigispetsiifilist PCR praimeride paari KJ-F (5'-CCATTAACGGAACCGACGTG-3') ja KJ-R (5' -GTGCGGCTCATTCTACGCTATC-3') (Hantula, Vainio 2003) ning männi-juurepessu liigispetsiifilist praimeripaari HetAn-F (5'-TCGGTCGGGTCTTTTGAC-3') ja HetAn-R (5'- CACAATCGTGGCGTACCA-3') (Riit 2014). Liikide (kuuse- ja männi-juurepess) tuvastamiseks tuli teha kaks erinevat PCR analüüsi ühe proovi kohta. 20 µl PCR-

i segu valmistamiseks kasutati 4µl 5x HOT FIREPol Blend Master Mix'i (10 mM MgCl₂) (OÜ Solis Biodyne, Tartu), 0,5x2µl liigile vastavaid praimereid, 1µl DNAd ning 14µl destilleeritud vett.

Kuuse-juurepessu liigispetsiifiliste praimerite korral toimus PCR ahelreaktsiooni kordistamine termotsükleriga Tprofessional Thermocycler (Biometra GmbH, Göttingen, Saksamaa) järgnevatel tingimustel: eelkuumutamine +95 °C juures 10 minutit, millele järgnes 40 tsükliline 30 sekundiline DNA denaturatsioon +95 °C juures, praimerite seondumine kestis 35 sekundit +66 °C juures ning DNA ahela süntees +72 °C ühe minuti. Lõppekstentsioon oli +72 °C juures 10 minutit, mille lõpetas masina jahtumine +16 °C-ni.

Männi-juurepessu puhul oli kordistamine mõne võrra erinev. Eelkuumutamine 15 minutit +95 °C juures, DNA denaturatsioon 30 sekundit +95 °C juures. Praimerite seondumine toimus +64 °C juures 30 sekundit ning DNA ahelsüntees ühe minuti +72 °C juures. Lõppekstentsioon oli +72 °C juures 10 minutit, sellele järgnes masina jahtumine +16 °C-ni.

Külmaseent määrati nähtava mädanikuga proovidest, millistest ei määratud juurepessu olemasolu, kuid olid kuuse- ja/või männi-juurepessu vastavate liigispetsiifiliste praimeritega analüüsitud. Külmaseene perekonna liigispetsiifilise perekonna praimerite paariga analüüsiti proovid, mille puhul oli visuaalselt märgata tumenemist aga juurepessu ei tuvastatud. Kokku analüüsiti külmaseene perekonna praimeriga 60 proovi, selleks kasutati külmaseene perekonna praimereid Armi-F (5' –GCACGTTTCGACGTGTTGCGTTC- 3') ja Armi-R (5' – GCAAAGGTGCGTTCAAAGACTCG -3') (Riit 2014) ja vastavalt protokollile: kõigepealt eelkuumutamine +95 °C juures 10 minutit, sellele järgnes 35 tsükliline 30 sekundiline DNA denaturatsioon +94 °C juures, siis toimus praimerite seondumine +70°C juures 30 sekundit. DNA ahela süntees toimus +72 °C juures 1 minut, peale seda oli lõppekstentsioon +72 °C juures 7 minutit. Kõige lõpetuseks jahtus masin jällegi +16 °C juurde.

2.4.3 Geelelektrofrees

See protsess oli vajalik, et visualiseerida seenpatogeeni olemasolu proovides.

Ettenähtud protokoll aluseks võttes valmistati 1%-ne agarosgeel. Olenevalt suurusele laeti DNA Ladder (Naxo OÜ, Eesti) agarosgeeli ning siis PCR produktid. Peale seda algas PCR

produktide ja DNA ladderi elektrofreees agarosgeelis, mis kestis 50 minutit 75 V pinge all.

Transilluminaatoriga Quantum ST4-3026/WL/25M (Vilber Lourmat SAS, Prantsusmaa) tehti UV-kiirgusega kindlaks DNA lõigu olemasolu ja selle lõigu pikkus geelil. Geelist saadud pilti töödeldi Quantum ST4 Express v16.04 programmiga (Viber Lourmat SAS, Prantsusmaa), mille abil visualiseeritud bandide abil tehti kindlaks juurepessu liikide ja külmaseene olemasolu.

3. TULEMUSED

Töö raames analüüsiti erineva vanusega (5-20 aastat) hariliku kuuse katsealadelt kogutud proove ning määrati juurepessu ja külmaseenega nakatunud puude arv (tk) ja hulk (%) sõltuvalt proovitüübist (juur, puuketas, juurdekasvuproov).

Tabel 3 kajastab katsealade kaupa nakatanud puude osakaalu (%) kogutud proovide koguhulgast.

Tabel 3. Seennakkusega puude osakaal alade kaupa

Katseala kood	Proovitüüp	Proovide arv kokku (tk)	Nakatunud puid ala kohta (tk)	Nakatunud proovide hulk ala kohta (%)
TT214 – 9	Juur	20	4	20
KV168 – 1	Juur	21	8	38,1
TT213 – 6	Juur	21	8	38,1
KS040 – 12	Juur	12	1	8,3
LA209 – 19	Juur	12	2	16,6
SV081 – 4	Juur	12	2	16,6
PM178 – 9	Juur/puuketas	12	0	0
VZ227 – 8	Juur/puuketas	12	0	0
KV124 – 26	Puuketas	12	0	0
PE046 – 5	Puuketas	12	2	16,6
PE055 – 16	Puuketas	12	1	8,3
AK103 – 6	Puuketas	12	2	16,6
TT060 – 3	Puuketas	12	0	0
VA069 – 7	Puuketas	12	0	0
KS217 – 1	Puuketas	12	1	8,3
VZ210 – 8	Puuketas	12	0	0
LA175 – 10	Puuketas	12	0	0
QB004 – 2	Puuketas	12	0	0
EV187 – 9	Puuketas	12	5	41,6
PW164 – 11	Puuketas	12	3	25
PE061 – 7	Puuketas	12	6	50
AA276 – 1	Puuketas	12	1	8,3
TT093 – 1	Juurdekasv	12	0	0
JS298 – 12	Juurdekasv	12	1	8,3

Tabel 3 järg

PE043 – 11	Juurdekasv	12	0	0
PS009 – 3	Juurdekasv	12	0	0
CO071 – 16	Juurdekasv	12	2	16,6
VA146 – 14	Juurdekasv	12	1	8,3
EV200 – 4	Juurdekasv	12	3	25
LA210 – 3	Juurdekasv	12	4	33,3
EV202 – 21	Juurdekasv	12	0	0
Keskmine väärtus			2	13

Enim oli nakatunud jänesekapsa kasvukohatüübi katseala PE061_7 millel esines juuremädanike nakkust pooltel uuritud puuketta proovidest, so. 50% kogutud proovidest olid juuremädanike poolt nakatunud. Juuremädanike nakkus on kõrge ka sinilille kasvukohtatüübi aladel KV168-1 ja TT213-6. Nendel katsealadel esines 8 nakatunud juureproovi 21-st (so. 38,1% proovidest olid nakatunud).

Jänesekapsa kasvukohatüübi puistud moodustasid katsealade koguarvust enamuse (tabel 1) ehk kokku 23 ala (74,2%). Seennakkus esines sama kasvukohatüübi puistutest 14 alal (61%). Kokku uuriti sellel kasvukohatüübil 293 proovi (kõik proovitüübid kokku), millest nakatunud on 44 proovi (15%). Eelneva metsapõlve kändudel tuvastati 18 alal (78,3%) mädaniku olemasolu. Ülejäänud viiel olid kännud kas liiga mädanenud, et tuvastada seennakkust või mädanik puudus. Tabel 4 annab ülevaate jänesekapsa kasvukohatüübi kõikidest aladest, kajastades praeguse metsapõlve ja eelneva metsapõlve nakkust.

Tabel 4. Jänesekapsa kasvukohatüübi proovialad, eelneva metsapõlve ja uue metsapõlve kahjustuse hinnangud

Katseala kood	Proovitüüp	Proovide arv (tk)	Uue metsapõlve nakatunud puud (tk)	Visuaalne hinnang, eelneva metsapõlve mädanikuga kännud (tk)
TT214 - 9	Juureproov	20	4	8
KV168 – 1	Juureproov	21	8	2
KV 124 – 26	Puuketas	12	0	1
PE055 – 16	Puuketas	12	1	2
PM178 – 9	Juureproov/puuketas	12	0	0
AK103 – 6	Puuketas	12	2	1
TT060 – 3	Puuketas	12	0	1
VA069 – 7	Puuketas	12	0	3

Tabel 4 järg

KS217 – 1	Puuketas	12	1	7
LA209 - 19	Juureproov	12	2	3
LA175 – 10	Puuketas	12	0	2
TT093 - 1	Juurdekasv	12	0	2
JS298 - 12	Juurdekasv	12	1	0
PS009 – 3	Juurdekasv	12	0	0
SV081 - 4	Juureproov	12	2	4
EV187 – 9	Puuketas	12	5	2
PW164 – 11	Puuketas	12	3	1
PE061 - 7	Puuketas	12	6	1
AA276 - 1	Puuketas	12	1	4
VA146 – 14	Juurdekasv	12	1	0
EV200 – 4	Juurdekasv	12	3	2
LA210 – 3	Juurdekasv	12	4	3
EV202 - 21	Juurdekasv	12	0	0
Keskmine väärtus			2	2

Tabel 4 põhjal selgub, et eelneva metsapõlve nakkus on mõjutanud uut metsapõlve 13 (56,6%) alal. Katsealadid kus labortööde käigus määrati kogutud proovidest seennakkuse esinemine aga välitööde käigus eelneva metsapõlve kändudel mädanikku ei tuvastatud, on vaid 2 (8,7%) ala. Kokku 5 (21,7%) alal esines eelmises metsapõlves mädanikuga kände, kuid uuest metsapõlvest juuremädanike esinemist ei tuvastatud, ning täiesti nakkuse vabad (nii eelmise metsapõlve kändud, kui ka kogutud proovid) on kõikidest aladest vaid 3 (13%). Antud töö tulemused näitavad, et jänesekapsa kasvukohatüübis mõjutavad eelmise metsapõlve nakatunud kändud ka uue metsapõlve puude tervislikku seisundit. Uuritud alade põhjal selgus, et uue metsapõlve kuuse-noorendik jänesekapsa kasvukohatüübis vanuseks 20 aastat on nakatunud juurepessu 57%-lise tõenäosusega, põhjuseks eelmise metsapõlve nakkus.

Sinilille kasvukohatüübi alasid oli kokku 7 (22,6%) (tabel 1). Mõlema juurepessu ja külmaseene nakkus (tabel 6) määrati laboratoorselt 3 (42,9%) alal. Kokku uuriti sellel kasvukohatüübil 93 proovi, millest nakatunud on 12 (12,9%) proovi. Eelneva metsapõlve kändudel avastati 6 (85,7%) alal mädaniku olemasolu (Tabel 5), seega on sinilille kasvukohatüübi kuusikud uuritud alade põhjal enam nakatunud juurepessu kui jänesekapsa kasvukohatüübi alad. Kuid, tulemust võib mõjutada asjaolu, et valim oli väiksem kui jänesekapsa kasvukohatüübi alade puhul.

Tabel 5. Sinilille kasvukohatüübi proovid, eelneva metsapõlve ja uue metsapõlve kahjustuse hinnangud

Katseala kood	Proovitüüp	Proovide arv (tk)	Praeguse metsapõlve nakatunud puud (tk)	Visuaalne hinnang, eelneva metsapõlve mädanikuga kännud (tk)
TT213 – 6	Juureproov	21	8	4
PE046 – 5	Puuketas	12	2	3
VZ210 – 8	Puuketas	12	0	0
PE043 – 11	Juurdekasv	12	0	1
QB004 - 2	Puuketas	12	0	5
VZ227 - 8	Juureproov/puuketas	12	0	1
CO071 - 8	Juurdekasv	12	2	2
Keskmine väärtus			2	2

Töö tulemused näitavad, et eelneva metsapõlve nakkus võib olla mõjutanud 3 ala (TT213-6, PE046-5, QB004-2) nakkuskoormust ka uues metsapõlves (tabel 5). Sinilille kasvukohatüübi tulemustest kajastub, et eelneva metsapõlve nakatunud kännud ei ole nii intensiivselt uut metsapõlve kahjustanud võrreldes jänesekapsa tüübiga. Võimlik, et see on tingitud alade vähesusest, võrreldes jänesekapsa kasvukohatüübi puistutega. Tõenäosus uue metsapõlve nakatumiseks juurepessu juba kuuse noorendiku eas kuni 20 aastat on 42,8%.

Naadi kasvukohatüübis oli kõikidest aladest vaid 1 katseala (tabel 1). Sellelt alalt koguti 12 juureproovi, millest ühel peenjuurel määrati männi-juurepessu olemasolu. Eelneva metsapõlve kändudel ei täheldatud mädaniku olemasolu.

Tabel 6 annab ülevaate kõikidest nakatunud aladest, millel esines juurepessu nakkust. Esitatud on proovid neid nakatunud juurepessu liikide kaupa. Kui esines ühel samal proovil mõlemat juurepessu liiki, siis on see eraldi esitatud. Juureproovide kohta on esitatud juuretüüp (jäme- või peenjuur), millel esines patogeeni nakkus.

Tabel 6. Kõikidel nakatunud hariliku kuuse proovidel esinenud juurepessu liigid

Katseala kood, vanus, kasvukohatüüp	Proovitüüp, millel esines patogeen	Proovide arv (tk)	Nakatunud proovide arv (tk)	Nakatunud proovide hulk (%)	Juurepessu liik
TT214 – 9, 5, JK	Jämejuur (<2mm)	20	2	10	<i>H. annosum</i>
	Peenjuur (≥2mm)	20	2	10	<i>H. parviporum</i>
KV168 – 1 (5, JK)	Jämejuur	21	3	14,3	<i>H. parviporum</i>
	Peenjuur	21	5	23,8	<i>H. parviporum</i>
TT213 – 6 (8, SL)	Jämejuur	21	5	23,8	<i>H. parviporum</i>
	Peenjuur	21	2	9,5	<i>H. parviporum</i>
	Jämejuur	21	2	9,5	<i>H. annosum</i>
KS040 – 12 (7, ND)	Peenjuur	12	1	8,3	<i>H. annosum</i>
LA209 – 19 (6, JK)	Peenjuur	12	2	16,6	<i>H. parviporum</i>
SV081 – 4 (8, JK)	Jämejuur	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
	Peenjuur	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
PE046 – 5 (15, SL)	Puuketas	12	1	8,3	<i>H. annosum</i>
	Puuketas	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
PE055 – 16 (6, JK)	Puuketas	12	1	8,3	<i>H. annosum</i>
AK103 – 6 (10, JK)	Puuketas	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
	Puuketas	12	1	8,3	<i>H. annosum</i>
KS217 – 1 (11, JK)	Puuketas	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
EV187 – 9 (11, JK)	Puuketas	12	5	41,6	<i>H. parviporum</i>
PW164 – 11 (5, JK)	Puuketas	12	3	25	<i>H. parviporum</i>
PE061 – 7 (10, JK)	Puuketas	12	6	50	<i>H. parviporum</i>
AA276 – 1 (7, JK)	Puuketas	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
JS298 – 12 (20, JK)	Juurdekasv	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
CO071 – 16 (13, SL)	Juurdekasv	12	2	16,6	<i>H. parviporum</i>
VA146 – 14 (11, JK)	Juurdekasv	12	1	8,3	<i>H. parviporum</i>
EV200 – 4 (10, JK)	Juurdekasv	12	2	16,6	<i>H. parviporum</i>
LA210 – 3 (20, JK)	Juurdekasv	12	4	33,3	<i>H. parviporum</i>
Keskmine väärtus			2	15	

Juureproove oli kokku kõikide alade peale 110, millest nakatunud proovide arv on 25 (22,7%). Puukettaid ehk saepuru proove oli kokku 180, millest juuremädanikega nakatunud proove oli 21 (11,6%). Juurdekasvu proove oli kokku 108, millest nakatunud 10 (9,3%). Enam olid nakatunud jämejuured (13 proovi). Mäni-juurepessu (*H. annosum*) kahjustust kuusikutes tuvastati kokku 6 alal, s.o 31,6% aladest. Kuuse-noorendikes oli juurepessu kahjutuse osakaal keskmiselt 15%.

Külmaseene perekonna (*Armillaria* spp.) praimeriga analüüsiti 60 proovi, millest 8 proovi olid positiivsed. Kokku leiti külmaseene nakkust 4 alal (Tabel 7).

Tabel 7. Külmaseene (*Armillaria* spp.) nakkusega proovide tulemused

Katseala kood	Proovitüüp	Nakatunud puude arv	Nakatunud puude %
TT214 – 9 (5, JK)	Jämejuur	1	10
	Peenjuur	1	10
KV168 – 1 (5, JK)	Jämejuur	2	9,5
	Peenjuur	1	4,7
TT213 – 6 (8, SL)	Jämejuur	1	4,7
	Jämejuur	1	4,7
EV200 – 4 (10, JK)	Juurdekasv	1	8,3
Keskmine väärtus		1	7

3.1 Seenpatogeenide esinemine maakondade kaupa

3.1.1 Tartumaa

Tartumaa proovialadel määrati kuuse-juurepessu, männi-juurepessu ja külmaseene esinemine (tabel 6 ja 7). Seenpatogeeni nakkusega puid ei tuvastatud vaid 6 proovialal (KV124; TT060; VA069; TT093; PE043; PS009). Kõrgeim juuremädaniku osakaal oli aladel KV168 ning TT213, kus juuremädanike poolt oli nakatunud 21 puust 8 (tabel 3). Proovialal KV168 oli peamiseks kahjustajaks kuuse-juurepess, kolmel puul lisaks külmaseen. Sellel alal määrati kahel eelneva metsapõlve kännul ka tsentraalse mädaniku esinemine. Alalt TT213 tuvastati peale kuuse-juurepessu kahel puul ka männi-juurepess, samuti külmaseene olemasolu. Mädanikku esines neljal eelmise metsapõlve kännul, mis moodustab 16% uuritud kändudest. Katsealalt TT214 koguti 20 juureproovi, millest kahel proovil esines kuuse-juurepess, kahel tuvastati männi-juurepess ja kahel proovil ka külmaseen. Eelmise metsapõlve kändudest esines tsentraalne mädanik kaheksal ehk 40% kõikidest uuritud kändudest. Ala KS040 kohta puudusid eelmise metsapõlve andmed, kuid labortöö tulemusel määrati ühel puul männi-juurepessu esinemine. Katsealalt PE046 tuvastati välitööde käigus kolmelt kännult (so. 25% uuritud kändudest) tsentraalse mädaniku esinemine ja labortööde käigus saadud tulemused näitasid kahel puul ka juurepessu esinemist (kuuse-juurepess ja männi-juurepess). Proovialal PE055 tuvastati männi-juurepessu olemasolu ja kahel eelneva metsapõlve kännul tsentraalne mädanik ning alal AK103 ühel kännul tsentraalse mädaniku esinemine ja labortööde käigus ühel puul kuuse-juurepessu ja teisel männi-juurepessu nakkus. Proovialal KS217 tuvastati tsentraalne mädanik 7 kännul, mis moodustab 58,3% uuritud kändudest, kuid labortööde käigus tuvastati vaid ühel puul kuuse-juurepessu esinemine. Alalt PE061 määrati eelneva metsapõlve ühest kännust tsentraalse mädaniku esinemine. Labortööde käigus tuvastati 6 proovil kuuse-juurepessu olemasolu. Järvelja metskonnas asuval kvartalil 298 eraldi 12 kogutud juurdekasvuproovidest tuvastati labortööde käigus ühel (8,3%) proovil kuuse-juurepessu esinemine. Eelneva metsapõlve kändude uuringul mädanikku ei tuvastatud. Katsealalt CO071 määrati 2 juurdekasvuproovist kuuse-juurepessu esinemine. Sellel alal määrati kahel eelneva metsapõlve kännul tsentraalse mädaniku olemasolu. Vara vallas asuvalt katsealalt VA146 kogutud juurdekasvuproovidest oli üks nakatunud kuuse-

juurepessu, kuid eelneva metsapõlve kändude hindamisel mädanikku ei tuvastatud. Eelneva metsapõlve kändud olid mõjutanud 16-st (52%) ala 31-st alast.

3.1.2 Jõgevamaa

Jõgevamaalt koguti 6 alalt kokku 72 proovi. Alalt LA209 tuvastati kahel puul peenjuurtes kuuse-juurepessu nakkus (tabel 6). Eelneva metsapõlve kändude uuringu käigus määrati sellel alal kolmel kännul ka tsentraalne mädanik. Enim kahjustunud Jõgevamaa ala oli LA210, kus 12 juurdekasvuproovist määrati neljast kuuse-juurepessu olemasolu. Välitööde käigus tuvastati sellel alal ka 25% eelneva metsapõlve kännul mädanik. Kahel kännul oli see tsentraalne, ühel perifeerne.

3.2 Põlvamaa ja Valgamaa

Põlvamaalt koguti proove 6 alalt kokku 72 proovi. Enim kahjustunud ala oli EV187, millel tuvastati 12 proovist 5-l (41,6%) kuuse-juurepessu nakkus (tabel 6). Välitööde käigus määrati ka kahel eelneva metsapõlve kännul tsentraalne mädanik. Ala SV081, kust koguti juureproovid, oli kuuse-juurepessu nakatunud 2 (16,6%) proovi. Ühel juhul määrati juurepessu olemasolu peenjuures ja teisel jämejuures. Eelneva metsapõlve kändude uuringu raames määrati neljal kännul tsentraalse mädaniku esinemine. Katsealal PW164 tuvastati kuuse-juurepessu nakkus kolmel (25%) proovil. Eelneva metsapõlve kändudest oli tsentraalse mädanikuga 1 känd uuritud 12-st. Ala EV200 juurdekasvuproovide analüüsi käigus tuvastati 3-l (25%) proovil juuremädanike esinemine, kuuse-juurepess (2 proovi) ja külmaseen (1 proov). Eelneva metsapõlve uuringu teostamisel määrati kahel kännul ka tsentraalne mädanik.

Valgamaalt oli analüüsis vaid üks katseala (AA276). Kuusenoorendik oli istutatud ning sealt koguti 12 puuketast. Labortööde käigus määrati ühel proovil kuuse-juurepessu nakkus. Välitööde raames määrati neljal kännul tsentraalse mädaniku olemasolu.

ARUTELU

Labortöö tulemused näitavad, et 19 kuuse noorendikus 31-st esineb juuremädaniku tekitajaid (juurepessu ja külmaseent) ehk 61,3%. Kõige suurem nakatunud puude arv oli proovialadel KV 168 ja TT 213, mis asuvad vastavalt jänesekapsa ja sinilille kasvukohatüüpides (21 proovist oli nakatunud 8). Kõige suurem kahjustuste hulk (50%) oli jänesekapsa kasvukohatüübis oleval alal PE 061, millel esines kuuse-juurepess 6 proovil 12-st. Juureproovide korral ei olnud märgata erilist vahet, kas proov on kogutud jämejuurest (13 nakatunud) võipeenjuurest (12 nakatunud), sest juurepessu nakkust tuvastati võrdselt. Mäni-juurepessu olemasolu kinnitati kuuel Tartumaa proovialal, milleks olid: TT214, TT213, KS040, PE046, PE055 ning AK103, s.o 19,4% hinnatud aladest ja 2% analüüsitud proovidest. Eelneva metsapõlve juurepessu kahjustus oli tugevalt mõjutanud alasid: TT214, TT213, EV187, PE061 ning LA210. Nendel aladel tuvastati eelneva metsapõlve kändudel mädaniku olemasolu keskmiselt 25% hinnatud kändudest, ning labortööde käigus oli nakatunud vähemalt 4 proovi ala kohta. Tõenäosus, et uus metsapõlv nakatub juurepessu eelmise metsapõlve kahjustuse tõttu on käesoleva töö andmestiku järgi 52%, s.o eelkõige jänesekapsa ja sinilille kasvukohatüübi kohta. Lääne Rootsis läbi viidud sarnasest uuringust saadi sarnaseid tulemusi. Kahjustuse ulatus olenevalt diameetri klassist ulatus isegi kuni 60% (Gunulf *et al.* 2013).

Seenpatogeeni nakkuse korral väheneb puude kõrguskasv ja diameeter. Kasvu vähenemine nakatunud puudes võib olla seotud toitainete ja vee raskendatud omandamisega, kuna mädanikuga juurte varustamise hulk on limiteeritud (Bendz-Hellgren, Stenlid 1997). See tõestab uuringu olulisuse, et teada saada ja hinnata viljakatesse kasvukohtadesse istutatud hariliku kuuse taimede tervislikku seisundit. Töö tulemused on arvestatava kaaluga metsamajandamise otsuste tegemisel. Hinnates eelmise metsapõlve kände on võimalik teha otsuseid uue metsapõlve tervisliku seisundi kohta. Juhul kui puistu uuendatakse okaspuuga, siis on käesoleva töö andmetel viljakates kuusikutes juurepessu nakatumise tõenäosus 52%. Seepärast on eelistatud tugeva nakkusega alade uuendamine lehtpuuga või kujundada okas- ja lehtpuu segapuistu. Samuti on otstarbekas endistele põllumaadele metsakultuuri rajades valida peapuuliigiks pigem lehtpuu. Põllumullas puuduvad juurepessu antagonistid, sellest

tulenevalt on väga suur võimalus peale esimest hooldusraiet puistu nakatumine juurepessu (Hanso 1986). See juhtub seetõttu, et raiete käigus tekivad kännupindasid kus juurepessu eosed saavad areneda seeneniidistikuks, seejärel liigub juurepess juurtesse ja nakatades ka naabruses olevaid puid (Drenkhan *et al.* 2014; Metslaid *et al.* 2018). Kuna sama liiki puude juured on puistus kokku kasvanud ning kännud on kaua aega kestvad nakkustsentrind seenpatogeenidele, nagu juurepess ja külmaseen (Hanso ja Hanso 1999).

Analüüsitud kuuse noorendikes (vanuses 5-20 aastat) oli enamlevinud kuuse-juurepessu nakkus, 49 proovi 57st olid nakatunud kuuse-juurepessu, s.o 85,9% ning nakkusega puid oli 14,4% kokku kõikidest hinnatud puudest. Kuuse-juurepess on olulisim juuremädaniku tekitaja hariliku kuuse puistutes, eelistades parasniisket mulda ja vältides liigniiskust, seega on juurepess pigem kasvukohahaigus ning levib seega pigem viljakates kasvukohaüüpid, kus kuusel on hea kasvada (Drenkhan *et al.* 2017). Mäni-juurepessu nakkusega puid leiti 6-lt alalt ja nakkusega puid oli kõikidest puudest 2%.

Eelnevas metsapõlves tuvastati mädanik 31 alast 24-l (77,4%). Võrreldes seda labortööde tulemusega, kus avastati seenpatogeeni olemasolu 19 alal 31-st võime järeldada, et eelneva metsapõlve kahjustus kindlasti mõjutab uut metsapõlve tervislikku seisundit. Kui metsas esineb seenpatogeeni, siis kahjustab ta suure tõenäosusega ka tulevasi metsapõlvesid (Hanso, Õunap 2016).

Hariliku kuuse suure majandusliku tähtsuse tõttu on vajalik kuusepuistute mõistlik hooldamine, et saada lõppraieks võimalikult suur hulk kvaliteetset puitu. Seetõttu on vaja teada, kuidas seenpatogeenid ja muud haigused neid mõjutavad ja kuidas me saame minimeerida inimtegevusest tulenevad kahjustusi. Peamiselt on juuremädanike levik ja intensiivsus seotud just hooldusraietega. Nakkuse intensiivsus sõltub ka raiete sagedusest ja nende teostamise ajast. Seetõttu soovitatakse puistus teha hooldusraied sellisel ajal, kus seeneeoste hulk õhus on minimaalne, s.o ööpäevane keskmine temp on alla +5 °C (Drenkhan *et al.* 2017). Soojal ajal tuleb kasutada juurepessu ennetavaks tõrjeks biopreparaati ROTSTOP.

KOKKUVÕTE

Kokku uuriti 31 katsealalt 398 proovi, mis asusid Tartumaal, Jõgevamaal, Põlvamaal ja Valgamaal. Proovid koguti 2016 aasta sügisest kuni 2017 aasta kevadeni. Proovitüüpideks olid juureproovid, puukettad ja ka juurdekasvuproovid.

Tartumaal paiknes kokku 18 katseala. Juurepessu ja külmaseene nakkus tuvastati ligispetsiifiliste DNA parimeritega kokku 12 alal. Esines nii kuuse-juurepessu (*H. parviporum*), männi-juurepessu (*H. annosum*) kui ka külmaseent (*Armillaria* spp.). Kõige enam olid kahjustunud 3 ala (KV168, TT213, PE061) millel oli kahjustunud proovise hulk üle 30%.

Jõgevamaal asus 6 katseala. Kokku oli nakatunud kaks ala (LA210, LA209), neist esimene tugevamini (25%). Antud aladel avastati DNA analüüsi järgselt kuuse-juurepessu olemasolu, teisi seenpatogeene ei tuvastatud.

Põlvamaalt koguti proovid kuuelt katsealalt. Nakatunud alasid oli kokku 4 (EV187, SV081, PW164, EV200). Neist esimesel tuvastati kõige suurem kahjustuse hulk, kus oli nakatunud 12 proovist 5 (41,6%). DNA analüüsiga tuvastati, et peamine kahjustaja oli kuuse-juurepess. Nimetatud aladest viimasel tuvastati ühel juhul ka külmaseen.

Valgamaalt analüüsiti ühte katseala, sellel alal esines ühel proovil (8,3%) kuuse-juurepessu nakkus.

Välitööde raames hinnati ka eelneva metsapõlve kändusid juhul kui need olid visuaalselt hinnatavad ehk ei olnud sammaldunud või mädanenud. Eelneva metsapõlve nakkus on mõjutanud uut metsapõlve enim jänesekapsa kasvukohatüübi aladel - 23 alast 13 (56,6%) alal esines mädanikuga kände. Viiel (21,7%) alal ei olnud juuremädanike nakkust uues metsapõlves vaatamata eelmise metsapõlve mädanikuga kändude olemasolule. Sinilille kasvukohatüübis oli mädanikuga kändude osakaal eelmises metsapõlves 42,9% aladel (so. kolmel alal seitsmest) ning uues metsapõlves oli nakkus 3 alal ja kahjustatud puid 12,9%. Naadi kasvukohatüübis oli vaid üks prooviala, kus määrati laboris juuremädanike esinemine, kuid eelneva metsapõlve kändudel mädanikku ei tuvastatud. Eelmise metsapõlve kuusikute

juurepessu nakkus tähendab järgmise metsapõlve kuuse nakatumist tõenäosusega 52%, seda eelkõige jänsekapsa ja sinilille kasvukohatüüpides.

Saadud tulemuste põhjal saab väita, et viljakate kasvukohatüüpide kuusikud nakatuvad seenpatogeenidega juba 5-20 aastaseks ning keskmiselt 15%. Peamine kahjustaja noortes kuusikutes on kuuse-juurepess, kuid harilik kuusk on vastuvõtlik ka külmaseenele ja männi-juurepessule.

KASUTATUD KIRJANDUS

Aastaraamat Mets 2014. (2016). Tartu: Keskkonnaagentuur. 242 lk.

Asiegbu, F. O., Adomas, A., Stenlid, J. (2005). Conifer butt and root rot caused by *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. S.l. – Molecular plant pathology, 6 (4), 395-409.

Bendz- Hellgren, M., Stenlid, J. (1997). Decreased volume growth of *Picea abies* in response to *Heterobasidion annosum* infection. – Canadian Journal of Forest Research, 27, 1519–1524.

Butin, H. (1995). Tree diseases and disorders. Causes, Biology and Control in Forest and Amenity Trees. Oxford, New York, Tokyo, Lonsdale, D. (Ed). Oxford University Press, p. 252.

Drenkhan, T. (2014). Olulisimate juuremädanike tekitajate leviku ja kahjustuse uuring Eestis. KIK metsanduse programmi 2012. a projekt nr. 3698. lk-d 16-18

Greig, B. J. W. (1995). Butt-rot of Scots pine in Thetford Forest caused by *Heterobasidion annosum*: a local phenomenon. – European Journal of Forest Pathology, 25, 95–99.

Gunulf, A., Wang, L., Englund, J., Rönnberg, J. (2013). Secondary spread of *Heterobasidion parviporum* from small Norway spruce stumps to adjacent trees. – Forest Ecology and Management, 287 pp 4-5

Hanso, M., Õunap, H. (2016). Olulisemad metsakahjustused ja nende vältimine. Tartu: SA Erametsakeskus, 44 lk.

Hanso, S. (1986). Juurepessu tekitaja *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. Ökoloogiast. – Metsanduslikud uurimused XXI. Metsakaitse. Tallinn: Valgus, lk 137-152.

Hanso, S., Hanso, M. (1999a). Juurepessu levimisest Eesti metsades. – Metsanduslikud uurimused XXXI, lk 162-172.

Hanso, S., Hanso, M. (1999b). Andmeid juuremädanike tekitajate kohta Eesti metsadest. – Metsanduslikud uurimused XXXI, lk 141-161.

Hantula, J., Vainio, E. (2003). Specific primers for the differentiation of *Heterobasidion annosum* (s.str.) and *H. parviporum* infected stumps in Northern Europe. – Silva Fennica, 37 (2), 181-187.

- Korhonen, K.** (1978). Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. – Communicationes Instituti Forestalis Fenniae, 94 (6), 1-5.
- Korhonen, K., Bobko, I., Hanso, S., Piri, T., Vasiliauskas, A.** (1992). Intersterility groups of *Heterobasidion annosum* in some spruce and pine stands in Byelorussia, Lithuania and Estonia. – European Journal of Forest Pathology, 22, 348–391.
- Korhonen, K., Capretti, P., Karjalainen, R., Stenlid, J.** (1998). Distribution of *Heterobasidion annosum* Intersterility Groups in Europe. – In: *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. /Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A. (eds.). Wallingford: CAB International, pp. 93-104.
- Piiskop, K.** (2017). Hariliku kuuse (*Picea abies* L.) tervisliku seisundi hinnang uuenenud raielangil. Bakalaureusetöö. Tartu, Eesti Maaülikool, 37 lk
- Piri, T., Korhonen, K.** (2008). The effect of winter thinning on the spread of *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce stands. – Canadian Journal of Forest Research, 38, 2589-2595.
- Prospero, S.** (2003). Ecology of *Armillaria cepistipes*: population structure, niches, pathogenicity and interactions with *Armillaria ostoya*: Thesis. Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, 127 p.
- Riit, T.** (2014). PCR praimerid taimede seenpatogeenide tuvastamiseks. Magistritöö. Tartu: Tartu Ülikool, 58 lk.
- Tjoelker, M. G., Boratynski, A., Bugala, W.** (2007). Biology and Ecology of Norway Spruce. The Netherlands: Springer. 460 p.
- Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A.** (1998). *Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control*. Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Hüttermann, A. (eds.). 1998. CAB International, Wallingford, UK, 589

Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Juho Ikkonen

sünniaeg 25.01.1996 (39601253517)

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda koostatud lõputöö Juuremädanike analüüs hariliku kuuse (*Picea abies* L.) noorendikes mille juhendaja(d) on Tiia Drenkhan ja Rein Drenkhan salvestamiseks säilitamise eesmärgil,

1.1. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja

1.2. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor

(allkiri)

Tartu,

(kuupäev)

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)